

Проф. Татяна Червенякова,<sup>1</sup>g-р Димитър Страшимиров,<sup>1</sup>гоц. Красимир Антонов,<sup>2</sup>g-р Виолета Лилянова,<sup>1</sup>проф. Захарий Кръстев<sup>2</sup><sup>1</sup>СБАЛИПБ „Проф. Иван Киров“ ЕАД, София<sup>2</sup>МБАЛ „Св. Ив. Рилски“, София

# Влияние на генотипа на HBV върху клиничното протичане, изхода и прогнозата при остра HBV-инфекция

## Резюме

Отношението на генотиповете на HBV към тежестта и изхода на острия вирусен хепатит В все още остава непълно изяснено. Клиничната изява на това остро възпалително заболяване на черния дроб варира в широки граници – от асимптоматични, аниктерични форми до фулминантни хепатити с развитие на остра чернодробна недостатъчност. Ние изследвахме осемте основни генотипа на HBV при 23 пациенти с остър вирусен хепатит В посредством INNO LiPA HBV DNA Genotyping assay. Шестнадесет от изследваните болни са с генотип D (70%), двама с генотип A (9%), а при петима – инфекция с повече от един генотип (3 с генотипове D и E, 1 с генотипове D и F и 1 – с D и A). Основната част от пациентите, инфектирани само с генотип D, оздравяха с негатиране на HBsAg, а трима останаха хронични носители (19%). Един от пациентите, инфектиран с генотип A, оздравя, а един остана хроничен носител. Двама от пациентите с генотипове D и E оздравяха, а един остана хроничен носител. Пациентът с генотипове D и A остана хроничен носител, а при пациента с генотипове D и F се разви остра чернодробна недостатъчност, последвана от exitus letalis. Обобщено може да се приеме, че при българските пациенти с остър вирусен хепатит В преобладава инфектирането с HBV генотип D (от 70% до 91%), като се наблюдават всички клинични форми на протичане на инфекцията. Малък процент от болните остават хронични носители на HBV. Инфектирани с няколко HBV-генотипа по-често хронифицират в сравнение с тези, инфектирани само с един генотип. Едновременната инфекция с няколко HBV-генотипа се наблюдава в случаите с фулминантен хепатит. Открит остава въпросът инфектирането с коя комбинация от HBV-генотипове крие по-сериозни рискове от фулминантно протичане.

**Ключови думи:** HBV, генотипове, оздравяване, фулминантен хепатит, хронификация.

## Influence of the genotypes of HBV on the clinical course, outcome and prognosis of the acute HBV infection

Tatyana Tcerveniakova,<sup>1</sup> Dimitar Strashimirov,<sup>1</sup> Krasimir Antonov,<sup>2</sup> Violeta Lilianova,<sup>1</sup> Zaharii Krastev<sup>2</sup><sup>1</sup>SHIPD „Proff. Ivan Kirov“ Sofia<sup>2</sup>St. Ivan Rilski Hospital, Sofia

## Abstract

The influence of the genotypes of HBV on the severity and outcome of acute HBV infection still remains not clearly understood. The clinical course of this acute inflammatory process of the liver varies in quite a wide range – from asymptomatic, anicteric forms to fulminant hepatitis with development of acute liver failure. Our examination included the 8 genotypes of HBV in 23 patients with acute hepatitis B using INNO LiPA HBV DNA Genotyping assay. Sixteen of the examined patients had genotype D (70%), two – genotype A (9%) and 5 had infection with more than one genotype (3 had mixed infection with genotypes D and E, 1 – D and F, 1 – D and A). The main part of the patients, infected with genotype D of the virus recovered with negativation of the HBsAg and 3 remained chronic carriers. One of the patients with genotype A recovered and one remained chronic carrier. The patient with mixed genotype D and A infection remained chronic carrier and the patient with genotypes D and F developed acute liver failure with exitus letalis. In general it could be assumed, that infection with HBV genotype D predominates among Bulgarian patients (70 to 91%) and all clinical forms of the course of the infection could be observed in such cases. Patients, infected with mixed genotypes more often develop chronic infection in comparison with these, infected with one genotype only. Mixed infection with two genotypes was observed in cases of fulminant hepatitis. Which combination of HBV genotypes carries more – serious risk of development of fulminant infection remains unclear.

**Key words:** HBV, genotypes, recovery, fulminant hepatitis, chronification.

## Въведение

Хепатитният В вирус е един от основните причинители на остър и хроничен вирусен хепатит по света.<sup>2</sup> Острата инфекция може да бъде иктерична или аниктерична, субклинична или инапарентна, като при около 90% от пациентите завършва с оздравяване с негативиране на HBsAg и появата на анти-HBs антитела. Фулминантен хепатит с прогресия към остра чернодробна недостатъчност се среща в 0.1 до 0.5 % от случаите, но леталитетът е висок, повече от 50%.<sup>22</sup>

Клиничното протичане и естественият ход на HBV-инфекцията се определят от фактори, свързани с гостоприемника и с вируса.<sup>20</sup>

От основно значение за съществуването на HBV-инфекцията е способността на този вирус да мутира, избягвайки имунните защитни механизми на гостоприемника, свързани основно с грешки, които допускат ензимът обратна транскриптаза при сложния процес на репликация на вируса.<sup>3, 4, 5, 6, 7</sup> В резултат на тези процеси възниква генетично разнообразие на HBV. Оформят се различни генотипове на вируса: А, В, С, D, Е, F, G и H.<sup>3, 6, 8</sup> Те се различават по генетичната последователност на региона preS/S от вирусния геном.<sup>2, 9, 17</sup>

Връзката между генотиповете, тежестта и изхода на заболяването при остър хепатит В продължава да се дискутира активно в последните години. Много автори твърдят, че генотиповете имат отношение към клиничното протичане на острата HBV-инфекция.<sup>13, 25</sup> Други са на противоположното мнение – HBV-генотиповете отразяват само географското разпространение на HBV-инфекцията.<sup>8, 9</sup>

При японски пациенти с фулминантен хепатит често се наблюдавани HBV-генотипове В (субтип Вj) и С (субтип Сe), докато при пациенти с остър самоограничаващ се хепатит В по-често се среща генотип А. При този генотип обаче е възможна и хронификация на заболяването, каквото се среща при пациенти с генотип В субтип Ва.<sup>23</sup>

Изучавано е и взаимодействието между HBV-генотиповете при остра инфекция с няколко генотипа едновременно.<sup>28</sup> Изследванията показват, че е възможно възникването на различни рекомбинантни варианти между генотиповете прекор и кор – промоторни варианти, preS1/S2 делеционни варианти, дори промяна на генотипа от един в друг.<sup>24</sup>

Преобладаващият генотип при изследвания при египетски деца с остра HBV-инфекция е бил В, а при пациенти с хроничен хепатит – D.<sup>23</sup>

Целта на нашето проучване е да определим генотипа на HBV при български пациенти с остър вирусен хепатит В и да оценим връзката на генотипа с клиничната форма и изхода от заболяването.

## Материали и методи

Бяха проследени 23 пациенти с остър вирусен хепатит В (ОВХ В), хоспитализирани в Специализирана болница за активно лечение на инфекциозни и паразитни болести „Проф. Ив. Киров“. Пациентите бяха на възраст от 18 до 67 години. 12 от тях мъже и 11 – жени.

Диагнозата остър вирусен хепатит В бе поставена на базата на клинично-епидемиологични данни и е потвърдена от наличието на положителни анти-HBc IgM. Изключени бяха ко-инфекции с HAV, HCV, HIV (П. Теохаров, НЦЗПБ, София).

Пациентите са проследени в динамика на контролни прегледи – първи контролен преглед (1КП) – 30 ден, 2 контролен преглед – 90 ден (2КП) и 3 контролен преглед – на 180 ден (3КП) след изписването от стационара. На клиничните прегледи се определяше клиничното състояние; биохимичните показатели; HBsAg; HBeAg при HBsAg(+) пациенти.

Генотип	D	A	D+E	D+A	D+F
Брой	16	2	3	1	1

Табл. 1. Генотипове при пациенти с остър вирусен хепатит В

Използвани са клинични и лабораторни критерии за оценка на тежестта на острата HBV-инфекция.<sup>30, 31</sup>

Статистическият анализ е извършен посредством SPSS 16.0; степен на достоверност 95%.

Форма	Брой пациенти n = 16
Лека	2
Среднотежка	9
Тежка	5

Табл. 2. Пациенти с HBV-генотип D

## Резултати

Резултатите от изследването на генотиповете на HBV при 23 пациенти с остър вирусен хепатит В са отразени в табл. 1.

Пациентите с HBV-генотип D по време на постъпването в болницата имаха различни клинични форми на протичане на остър хепатит: 5 – с тежка форма; 9 – със средно тежка форма, и 2 – с лека форма (табл. 2).

Тринадесет от тези пациенти оздравяха – петте пациенти с тежко протичане и осем от пациентите със средно тежка форма на протичане. Тринадесет пациенти с генотип D останаха HBsAg(-) до 6 месец след дехоспитализацията (3 КП). Те бяха двамата пациента с лека и един със средно тежка форма на протичане.

Пет пациенти с остър вирусен хепатит В имаха инфекция със смесен генотип.

Двама от пациентите с HBV-генотипове D и E негативираха HBsAg в рамките на 1 месец след изписване-

Брой	1КП		2КП		3КП		Общо	
	HBsAg – 30 ген		HBsAg – 90 ген		HBsAg – 180 ген			
		Отрицателни	Положителни	Отрицателни	Положителни	Отрицателни	Положителни	
Генотип	A	1	1	1	1	1	1	2
	D	3	13	13	3	13	3	16
	D+A	0	1	0	1	0	1	1
	D+E	1	2	2	1	2	1	3
Общо		4	18	17	5	17	6	23*

Табл. 3. Наличие/отсъствие на HBsAg на 1КП, 2КП и 3КП; \*един от пациентите е починал

Генотип	D	A	D+E	D+F	D+A
HBsAg (-)	13	1	2	-	-
Хронификация	3	1	1		1
Смърт	-	-	-	1	-
Общо	16	2	3	1	1

Табл. 4. Изход на острата HBV-инфекция при различните генотипове

мо от стационара. При третия пациент с генотипове D и E, който бе с аноктерична форма на остър вирусен хепатит В, HBsAg остана положителен до 6 месец след изписването.

Пациентката, инфектирана с HBV-генотипове D и F, имаше фулминантно протичане на острия вирусен хепатит с развитие на остра чернодробна недостатъчност и ех. letalis в рамките на 48 часа след хоспитализацията.

При пациента с HBV-генотипове D и A заболяването протече леко. Той беше HBsAg(+) на 1КП, 2КП и 3КП.

HBV-генотип А бе доказан при двамата от пациентите. При единия заболяването протече в лека, аноктерична форма и персистиране на HBsAg до 3КП включително. Вторият пациент имаше среднотежка форма на остър хепатит с негатиране на HBsAg в рамките на 1КП. Обобщено, HBsAg на контролните прегледи и изходът на острата HBV инфекция при различните генотипове, са представени на табл. 3 и 4.

Трима от пациентите, положителни за HBsAg на 2КП и 3КП, са HBeAg(-): един с генотип D; един с HBV-генотип D и A; един с HBV-генотип D и E. Други трима пациенти, положителни за HBsAg са HBeAg(+) – 2 с генотип D и един с генотип А.

## Обсъждане

Установеният при това наше проучване основен генотип при остър вирусен хепатит В е D – при 16 пациенти (70%). Това са болни с лека, средно тежка и тежка форма на протичане на заболяването. Острият вирусен хепатит при основната част от тях завършва с оздравяване, тоест касае се за самоограничаваща се HBV-инфекция (13 души). Те негатира HBsAg в рамките на 1 до 3 месеца след дехоспитализацията. При трима паци-

енти с генотип D се наблюдава персистиране на HBsAg на 6 месец след изписването. У нас З. Кръстев и съпр. изследват генотиповете на HBV при 58 пациенти с хронична HBV-инфекция. Сред тях 49 (85%) са с генотип D и 9 (15%) са със смесен генотип.<sup>11</sup> Генотип D е преобладаващият генотип на HBV в Източна Европа.<sup>10, 11</sup> Често се асоциира, но не задължително, с прекор вариант (HBeAg негативен) и core-промоторни мутации. Тези случаи, по данни на различни автори, могат да бъдат свързани с по-тежко протичане на инфекцията.<sup>4, 18, 22</sup>

Генотип А се наблюдава само при двамата от нашите пациенти. И двамата са с епидемиологична анамнеза за посещение на западноевропейски страни, където този генотип е преобладаващ. При описаните досега в света случаи от този генотип са редки прекор и кор-промоторните мутации и те са HBeAg-позитивни лица.<sup>25, 26</sup> Този генотип се асоциира по принцип с по-леко протичане и тенденция за протрахиране и хронифициране.<sup>25</sup>

5 пациенти са със смесен генотип. При тях присъства генотип D в комбинация с други генотипове (A, F, E). Клиничното протичане на инфекцията е от фулминантно (при пациентка с генотипове D и F) до леко протичане със задържане на HBsAg на 6 месец след дехоспитализацията и последваща хронификация (един пациент с D+A и един с D+E). Смесените генотипове остават дискусабилни по отношение на възможността при тях да се отчита по-често хронична HBV-инфекция. Малкият брой пациенти с фулминантен хепатит не позволява да мислим, че тази клинична форма е свързана с определена комбинация от генотипове.

Всички изследвани пациенти, които са HBsAg(+) след 3 месец след изписването (протрахираны форми) са HBsAg(+) и на 6 месец. Това включва всички пациенти с леко протичаща инфекция. От нашите наблюдения основните фактори за хронификация на процеса са аноктеричното протичане на инфекцията, задържане на HBsAg повече от 3 месеца след дехоспитализацията, особено при HBeAg-положителни пациенти.

Корелационният анализ между тежестта на протичане на инфекцията в три дискретни стойности (лека, средно тежка и тежка) и хронификация в две дискретни стойности (да/не) спрямо генотипове (5 дискретни

стойности) е посочен в табл. 5.

Стойностите на коефициента на Крамер между тежест и генотип, хронификация и генотип са твърде малки, за да може да се говори за взаимна обусловеност (<0.7). Между тежест и хронификация има значителна стойност на коефициента на Крамер (>0.5). Колкото по-леко протича инфекцията, толкова по-голяма е тенденцията към протрахиране и впоследствие към хронифициране, а тежко протичащите инфекции са с тенденция към ранно изчистване на HBsAg и оздравяване.

## Заклучение

При българските пациенти с остър вирусен хепатит В в България преобладава инфектирането с HBV-генотип D (от 70 до 91%), като се наблюдават всички клинични форми на протичане на инфекцията. Малък процент от нашите болни стават хронични носители на HBV. Пациентите, инфектирани с няколко HBV-генотипа, по-често хронифицират в сравнение с тези, инфектирани само с един генотип. Едновременната инфекция с няколко HBV-

Сила на връзката				
		Тежест	Хронификация	Генотип
Тежест	Cramer's V	1	.889**	.457
	Sig. (2-tailed)		.000	.292
	N	23	22*	23
Хронификация	Cramer's V	.889**	1	.417
	Sig. (2-tailed)	.000		.281
	N	22	23	22
Генотип	Cramer's V	.457	.417	1
	Sig. (2-tailed)	.292	.281	
	N	23	22	23
* Един от пациентите е починал				
**Корелацията е статистически значима при 0.01 (2-tailed)				

Табл. 5. Корелационен анализ между тежест, хронификация и генотип

генотипа се наблюдава при случаи с фулминантен хепатит. Открит остава въпросът инфектирането с коя комбинация от HBV генотипове крие по-сериозни рискове от развитие на фулминантен хепатит.

## Литература

3. Кръстев, К. Чернев, Д. Петрова, Д. Николовска, И. Маринова, И. Чакърски, И. Коцев, К. Антонов и сътр. Отворено, мултицентрово, национално, нерандомизирано клинично изпитване за оценка ефективността и безопасността на Peginterferon alfa-2A (40 kD) (Pegasys®) при пациенти с HBeAg(-) хроничен хепатит В. Протокол ML 18092 - резултати. *Българска хепатогастроентерология* 2006; 2:90-91.
- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337:1733-1745.
- Chu C, Hussain M, Lok ASF. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology* 2002; 122:175-176.
- Hannoun C, Horal P, Lindh M. Long term mutation rates in the hepatitis B virus genome. *J Gen Virol* 2000; 81:75-83
- Kato H, Orito E, Sugauchi F, Ueda R, Gish RG, Usuda S, Miyakawa Y, Mizokami M. Determination of hepatitis B virus genotype G by polymerase chain reaction with hemi-nested primers. *J Virol Methods* 2001; 98:153-159.
- Locarnini, S. 2002. Clinical relevance of viral dynamics and genotypes in hepatitis B virus. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:322-328.
- Morozov V, Pisareva M, Groudinin M. Homologous recombination between different genotypes of hepatitis B virus. *Gene* 2000; 260:55-65.
- Norder H, Courouce A, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198:489-503.
- Osiowy C, Giles E, Osiowy C, Giles E. Evaluation of the INNO-LiPA HBV Genotyping Assay for Determination of Hepatitis B Virus Genotype. *J Clin Microbiol* 2003 Dec; 41 (12):5473-7.
- Sanchez-Tapias J M, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123:1848-1856.
- Starkman SE, MacDonald DM, Lewis JC, Holmes EC, Simonds P. Geographic and species association of hepatitis B virus genotypes in non human primates. *Virology* 2003; 314:381-93.
- Sugauchi F, Mizokami, M., Orito E et al. A novel variant genotype C identified in isolates from Australian Aborigines: complete genome sequence and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2001; 82:883-92.
- Sugauchi F, Orito E, Ichida T et al. Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the pre-core region plus the core gene. *J Virol* 2002; 76:5985-82.
- Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai N, Imazeki F, Kurihara T, Kanda T, Fukai K, Kato M, and Saisho H. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003; 37:19-26.
- Terrault NA, Zhou S, McCorry RW et al. Incidence and clinical consequences of surface and polymerase gene mutations in liver transplant recipients on hepatitis B immunoglobulin. *Hepatology* 1998; 28:555-61.
- Yuen M, Sablon E, Yuan H, Wong D, Hui, Wong B, Chan A, and Lai C. 2003. Significance of hepatitis B genotype in acute exacerbation, HBeAg seroconversion, cirrhosis-related complications, and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 37:562-567.
- Norder H, Hammas B, Lofdahl S, Courouce AM, Magnius LO. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol* 1992; 73:1201-1208.
- Osaza, A., Y. Tanaka, E. Orito et al. Influence of genotype and pre-core mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 44:326-334.
- Grandjacques C, Pradat P, Stuyver L, Chevallier M, Chevalier P, Pichoud C, Maisonnas M, Trepo C, Zoulim F. Rapid detection of genotypes and mutations in the pre-core promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: correlation with viral persistence and disease severity. *J Hepatol* 2000; 33:430-439.
- Neurath AR, Kent, SBH. Antigenic structure of human hepatitis B viruses. In: van Regenmortel MVH, Neurath AR, eds Immunohistochemistry of viruses. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1985:325-66.
- Ashton-Rickardt PG: mutations that change the immunological subtype of hepatitis B virus surface antigen and distinguish between antigenic and immunogenic determination. *J Med Virol* 1989; 29:204-14.
- Trey C, Davidson L. The management of fulminant hepatic failure. In: Popper H, Shaffner F, eds. Progress in Liver Disease. New York: Grune & Stratton; 1970:282.
- Sugauchi F, Kumada H, Sakugawa H, Komatsu M, Niitsuma H, Wantabe H et al. Two subtypes of genotype B (Ba and Bj) of hepatitis B virus in Japan. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1222-1228.
- Zekri AR, Hafez MM, Mohamed NI, Hassan ZK, El-Sayed MH, Khaled MM Mansour T. Hepatitis B virus (HBV) genotypes in Egyptian pediatric cancer patients with acute and chronic active HBV infection. *Virology journal* 2007; 4:74.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.